

舒血宁注射液细菌内毒素检查法的建立

赖善城,修连喜 (福建省龙岩市第二医院,福建 龙岩 364000)

摘要:目的 建立舒血宁注射液的细菌内毒素检查的方法。方法 按《中国药典》2000年版(二部)附录收载的细菌内毒素检查方法及指导原则进行实验。结果 将舒血宁注射液经4倍稀释可消除干扰因素,用标示灵敏度为0.25EU/mL的鲎试剂检测细菌内毒素是有效的。结论 可以用细菌内毒素检查法代替家兔法来控制舒血宁注射液的质量。

关键词:舒血宁注射液;细菌内毒素检查法;热原

中图分类号:R927.12 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2005)03-0233-02

Establishment of bacterial endotoxin test for shuxuening injection

LAI Shan-cheng, XIU Lian-xi (The Second Hospital of Longyan, Fujian Province, Longyan 364000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the method of checking bacterial endotoxin in shuxuening injection. **METHODS** Bacterial endotoxin test procedure and guideline in Chinese Pharmacopoeia were used. **RESULTS** The test showed that the interference elements can be excluded by diluting shuxuening injection 4 times, and it is effective that endotoxin can be tested by amoebocyte lysate with accuracy of 0.25EU/mL. **CONCLUSION** Bacterial endotoxin test can be used in place of rabbit method for pyrogen monitoring of shuxuening injection.

KEY WORDS: Shuxuening injection; bacterial endotoxin test; pyrogen

舒血宁注射液为银杏叶经提取制成的灭菌水溶液,具有扩张血管、改善微循环的功效。临床上用于缺血性心脑血管疾病、冠心病、心绞痛、脑栓塞、脑血管痉挛等。卫生部药品标准WS₃-B-3707-98规定,舒血宁注射液采用家兔法进行热原检查。笔者通过实验,探讨以细菌内毒素检查法代替热原检测舒血宁注射液的可行性。

1 实验材料

鲎试剂(TAL),厦门鲎试剂厂,批号0208102;湛江海洋生物制品厂,批号021105,灵敏度(λ)均为0.25EU/mL,0.1mL/支;细菌内毒素工作标准品,中国药品生物制品检定所,批号2002-7,150EU/支;细菌内毒素检查用水(BET水),厦门鲎试剂厂,批号020801,2mL/支;舒血宁注射液,万荣三九药业公司,2mL/支,批号030319,030605,030812;细菌内毒素检查用具按规定除热原。

2 方法与结果

2.1 细菌内毒素限值(L)的计算

本品的日静脉滴注剂量为5mL,加入5%葡萄糖注射液250mL中静滴,滴注时间按1h计,^[1]细菌内毒素阈值(K)为表1 预试验结果

5.0EU/(kg·h)。细菌内毒素限值(L)为:

$$L = K/M = 5.0 \text{ EU} \cdot (\text{kg} \cdot \text{h})^{-1} / 250\text{mL} \times 60(\text{kg} \cdot \text{h})^{-1} = 1.2 \text{ EU/mL}$$

2.2 最大有效稀释倍数(MVD)的确立

$$\text{MVD} = \text{CL}/\lambda = (1.0\text{mL/mL} \times 1.2\text{EU/mL}) / (0.25\text{EU/mL}) = 4.8\text{倍}$$

2.3 鲎试剂灵敏度复核试验

鲎试剂灵敏度复核试验按细菌内毒素检查法操作^[2],结果灵敏度在0.5~2.0 λ 之间,表明鲎试剂灵敏度标示值符合规定。

2.4 干扰试验

2.4.1 干扰试验预试验 为排除舒血宁注射液(简称供试品)本身对TAL与细菌内毒素凝胶反应可能存在的干扰,分别取供试品原液和1:1,1:2,1:3,1:4稀释液将细菌内毒素工作标准品稀释成2 λ (0.5EU·mL⁻¹)浓度,用 $\lambda=0.25\text{EU/mL}$ 的TAL进行试验,同时作阳性和阴性对照,结果见表1。从表1的结果看,舒血宁注射液原液和1:1,1:2稀释液对TAL凝胶反应存在抑制作用,而1:3,1:4稀释液则无干扰。

Tab 1 Results of primary test

供试品批号	TAL批号	原液	1:1	1:2	1:3	1:4	阳性对照	阴性对照
030319	0208102	- -	- -	- -	++	++	++	- -
030605	0208102	- -	- -	- -	++	++	++	- -
030812	0208102	- -	- -	- -	++	++	++	- -
030319	021105	- -	- -	- -	++	++	++	- -
030605	021105	- -	- -	- -	++	++	++	- -
030812	021105	- -	- -	- -	++	++	++	- -

2.4.2 干扰试验

取 3 批经热原检查合格的供试品,用 BET 水稀释 4 倍后,分别用此溶液和 BET 水将同一支内毒素工作标准品制成含细菌内毒素工作标准品 2.0, 1.0, 0.5, 0.25λ(0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 EU/mL) 4 种浓度的内毒素溶液。每一浓度平行做 4 支,另取 BET 水和供试品稀释液各做 2 支阴性对照

管。按细菌内毒素检查法操作,结果见表 2。

最大浓度 2.0λ 管均为阳性,最低浓度 0.25λ 管均为阴性,阴性对照管均为阴性,用 BET 水和供试品溶液制成的内毒素溶液的反应终点浓度的几何平均值 E_s 和 E_t 。从表 2 中可看出, E_s 在 0.5λ—2.0λ 之间, E_t 在 0.5 E_s —2.0 E_s 之间,说明舒血宁注射液的 4 倍稀释液对细菌内毒素试验无干扰。

Tab 2 Results of interference test of Shuxuening injection

TAL批号	供试品批号	内毒素浓度 (EU/mL)				阴性对照	Et/Es
		0.5	0.25	0.125	0.0625		
0208102	030319	++++	++++	----	----	----	0.25
	030605	++++	++++	+-	----	----	0.18
	030812	++++	++++	+-	----	----	0.21
	BET水	++++	++++	----	----	----	0.25
021105	030319	++++	++++	+-	----	----	0.21
	030605	++++	++++	+-	----	----	0.21
	030812	++++	++++	----	----	----	0.25
	BET水	++++	++++	----	----	----	0.25

2.5 细菌内毒素检查试验:将 3 批经热原检查合格的舒血宁注射液用 BET 水稀释 4 倍,用 λ = 0.25 EU/mL 的鲎试剂,按细菌内毒素检查法进行检查,结果见表 3。

内毒素检查均符合规定,与家兔法结果一致。

表 3 细菌内毒素检查试验结果

3 讨论

Tab 3 Results of bacterial endotoxin test

供试品批号	细菌内毒素检查				结果
	供试品管	供试品阳性管	阳性对照管	阴性对照管	
030319	-	+	+	-	合格
030605	-	+	+	-	合格
030812	-	+	+	-	合格

从上述实验可知,舒血宁注射液的 4 倍稀释液对细菌内毒素检查法无干扰作用,可用细菌内毒素检查法代替热原检查法。方法是:舒血宁注射液的 4 倍稀释液,用 λ = 0.25 EU/mL 的鲎试剂,按细菌内毒素检查法进行检查,结果准确,可靠。

参考文献

从表 3 的结果看,供试品管和阴性对照管均为阴性,供试品阳性管和阳性对照管均为阳性,3 个批号供试品的细菌

[1] 卫生部药品标准[S]. WS₃-B-3707-98.

[2] 中国药典 2000 年版二部[S]. 2000:附录 86.204.